

INFLUÊNCIA DO TEGUMENTO NA INOCULAÇÃO *IN VITRO* DE SEMENTES DE *ABAREMA COCHLIACARPOS* (B.A. GOMES) BARNEBY E J.W. GRIMES

Pedro Mazzocco Pereira, Marlla de Oliveira Hott, Nina Cládia Barboza da Silva

Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo/ Departamento de Produção Vegetal,
Alto Universitário s/n, Cx Postal 16 - Alto Universitário – Alegre – ES, 9500-000, ninacbs@terra.com.br

Resumo- *A. cochliacarpus* é uma leguminosa arbórea nativa da Mata Atlântica vulnerável à extinção. Desta forma, o desenvolvimento de técnicas que permitam sua obtenção e multiplicação apresenta extrema relevância sendo o uso de técnicas de micropropagação promissor. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência do tegumento na porcentagem de contaminação, germinação e sobrevivência das sementes de barbatimão inoculadas *in vitro*. Os tratamentos consistiram da não retirada do tegumento (T0) retirada do tegumento 7 dias (T1) ou 2 dias (T2) após a inoculação. Ao final de 24 dias de cultivo *in vitro*, as sementes do T0 apresentaram 86,7% de contaminação, 100% de germinação e 13,3% de sobrevivência das plântulas. No T1 foi observada 5,6% de contaminação, aproximadamente 89% de germinação e sobrevivência. No T2, obteve-se 17,1% de contaminação, 57,1% de germinação e 51,4% de sobrevivência das plântulas. Estes resultados demonstram que existe influência do tegumento sob a contaminação, germinação e sobrevivência das sementes, sendo que os melhores resultados foram obtidos nos tratamentos em que este foi retirado.

Palavras-chave: *Abarema cochliacarpus*, sementes, contaminação, germinação, cultura *in vitro*

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas

Introdução

Abarema cochliacarpus (B.A. Gomes) Barneby e J.W. Grimes (Leguminosae - mimosoideae) é uma espécie nativa do Brasil que apresenta porte arbóreo, atingindo até 8 metros de altura. Popularmente conhecida como “barbatimão”, “babatemão”, “barbatião”, o chá preparado com a casca do caule é utilizado como cicatrizante, antiinflamatório, no combate a leucorréias, blenorragias e processos infecciosos epidérmicos, para tratar gastrite e úlcera (SILVA et al, 2005, Silva, 2003). Com relação ao material de, do extrato metanólico da casca do caule de campo *A. cochliacarpus* foram isolados triterpenos e catequinas possuindo atividade antimicrobiana (ARAÚJO, 2002); do extrato etanólico também das cascas foram isolados lupeol e catequinas (MENDONÇA, 2000).

O gênero *Abarema* atualmente possui cerca de 45 espécies, restritas aos Neotrópicos (RICO ARCE, COOKE, 1997) No Brasil ocorre principalmente em faixas de Mata Atlântica distribuídas pelos estados do Espírito Santo, Bahia e Paraíba podendo ser encontrada na caatinga, no cerrado e em campos rupestres, às vezes alcançando altitudes de até 1100 metros (IUCN, 2007). Das espécies existentes atualmente para o gênero *Abarema*, 16 encontram-se na Lista vermelha de espécies ameaçadas de extinção da União Internacional para Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais (IUCN), entre as quais *A. cochliacarpus* que está classificada

como vulnerável devido à fragmentação de suas áreas de ocorrência (IUCN, 2007). AGRA et al., (2006) apontam a espécie como uma das espécies da flora nordestina com importância econômica potencial havendo necessidade de pesquisas visando o desenvolvimento de fitoterápicos e a promoção do uso racional desta como fonte de medicamentos.

Neste cenário o uso de técnicas de cultura *in vitro* mostra-se promissor possibilitando a obtenção e multiplicação rápida de novos indivíduos. Um protocolo para o estabelecimento da cultura *in vitro* foi desenvolvido por SILVA (2006). Entretanto, assim como para outras espécies do gênero, a germinação das sementes é inferior a 50% havendo necessidade de otimizar o processo de germinação.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência da retirada do tegumento na contaminação das sementes introduzidas *in vitro* visando o estabelecimento de um protocolo de micropropagação para a espécie.

Metodologia

Este trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA/ UFES).

Sementes foram coletadas de indivíduos demarcados geograficamente através de GPS e previamente identificados, com exsiccatas depositadas no Herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (RB 365914), e levadas para o

Laboratório sendo posteriormente submetidas a um processo de desinfestação. Foram esterilizadas superficialmente com água destilada adicionada de 3-4 gotas de Tween 20 por 30 minutos, lavadas 4 vezes com água destilada por 1 minuto, em seguida foram imersas em hipoclorito de sódio comercial 30 % por 15 minutos, novamente lavadas 4 vezes com água destilada por 1 minuto, imersas em álcool 70% por 5 minutos e então lavadas 3 vezes em água destilada estéril por 5 minutos. Cada semente foi inoculada individualmente em tubos de ensaio contendo 10 ml de meio sólido de composição básica segundo Murashige e Skoog (1962), sem adição de hormônios (MS) suplementado com 30 g/L sacarose e solidificado com 8 g/L agar. O pH ajustado para $5,8 \pm 1$ o meio foi esterilizado em autoclave a 120°C e 1.1 Kgf/cm^2 , durante 20 min.

O tratamento testemunha (T0) consistiu da não retirada do tegumento da semente. No tratamento 1 (T1), sete dias após a inoculação, o tegumento de cada plântula que apresentava cotilédones expandidos foi retirado. Já no tratamento 2 (T2) dois dias após a inoculação foi efetuada a retirada do tegumento de cada plântula com cotilédones expandidos. Toda manipulação ocorreu em câmara de fluxo laminar sob condições assépticas. O material foi mantido em sala de crescimento com temperatura de $25 \pm 1^\circ \text{C}$ sob iluminação com lâmpadas fluorescentes tipo luz do dia, COM fluência de $1,6 \text{ W/m}^2$ e fotoperíodo 16/8 h durante todo o experimento.

Foram realizadas avaliações da porcentagem de contaminação, germinação e sobrevivência das plântulas (alongamento do eixo hipocótilo-radicular e expansão dos primórdios foliares) entre 7-10 dias após a inoculação (1ª avaliação) e ao final de 24 dias (2ª avaliação).

Resultados

A retirada do tegumento ocasionou uma redução da porcentagem de contaminação quando comparado com o tratamento controle (Figura 1). Nos tratamentos T1 e T2 a contaminação manteve-se estável ao longo do experimento (5,6 e 17,1%, respectivamente, sendo que apenas no tratamento sem retirada de tegumento (T0) foi observado um aumento na contaminação de 33,3% entre 7-10 dias atingindo 86,7% dos explantes ao final de 24 dias. Apesar de reduzida a contaminação, nenhuma das condições avaliadas resultou em eliminação total da contaminação.

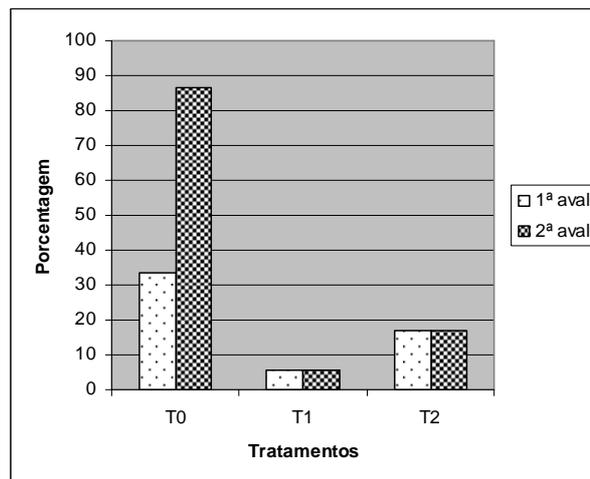


Figura 1 – Porcentagem de contaminação das sementes nos diferentes tratamentos.

Ao final de 24 dias obteve-se maior porcentagem de germinação das sementes no tratamento T0 com significativa redução nos tratamentos com retirada do tegumento (Tabela 1). Sob este aspecto, o tratamento T1 apresentou-se mais eficiente quando comparado com T2 proporcionando maior germinabilidade (Tabela 1). Vale ressaltar que apesar da redução da germinação, as plântulas desenvolvidas em T1 e T2 alcançaram maior porcentagem de sobrevivência quando comparadas com o controle (T0) (Tabela 1).

Tabela 1 – Avaliação da germinação e sobrevivência das plântulas nos diferentes tratamentos.

Tratamentos	Avaliações	% Germinação	% Sobrevivência
T0	1ª	66,7 ^b	0 ^c
	2ª	100,0 ^a	13,3 ^c
T1	1ª	55,6 ^b	22,2 ^c
	2ª	88,9 ^d	88,8 ^a
T2	1ª	34,3 ^c	8,6 ^{bc}
	2ª	57,1 ^{bc}	51,4 ^b

Valores seguidos por letras diferentes na mesma coluna significam resultados estatisticamente diferentes ($p < 0.05$).

Discussão

A redução na contaminação nos tratamentos T1 e T2 sugere a presença de patógenos principalmente nos tegumentos. A semente pode estar contaminada de duas maneiras: interna e externamente sendo que internamente, os microrganismos podem ser encontrados no

tegumento, cotilédones e mesmo no embrião, dependendo do patógeno envolvido e, externamente, os esporos e os micélios dos fungos podem permanecer aderidos ao tegumento (HENNING; NETO, 1980). Sementes de *Ricinus communis* submetidas à retirada de tegumento também apresentaram redução da porcentagem de contaminação *in vitro* (CARVALHO et al., 2002). A não eliminação por completo da contaminação pode indicar que há presença de patógenos internamente. Henning e Neto (1980) observaram que em sementes de soja, os microrganismos contaminantes estavam localizados internamente na semente e não aderidos externamente. Entretanto, há necessidade de avaliar outros protocolos de desinfestação superficial para verificar se alterações nos mesmos irão reduzir a porcentagem de contaminação confirmando a localização dos agentes patogênicos.

Apesar das sementes no tratamento T0 apresentarem maior porcentagem de germinação como houve elevada contaminação muitas plântulas foram perdidas ocasionando redução na sobrevivência das mesmas. Os resultados obtidos nos tratamentos com retirada de tegumento (T1 e T2) mostram que apesar da taxa de germinação diminuir há maior sobrevivência das plântulas como consequência da redução da taxa de contaminação.

Conclusões

A retirada do tegumento resulta em menor porcentagem de contaminação de sementes de *Abarema cochliacarpus* inoculadas *in vitro*.

O melhor tratamento para o estabelecimento da cultura *in vitro* de barbatimão é a aquela com retirada de tegumento 1 semana após a inoculação das sementes.

Há necessidade de se avaliar outros agentes desinfestantes e variações nos tempos de exposição aos mesmos visando à eliminação por completo da ocorrência de contaminação.

Agradecimentos

Ao CNPq pelo apoio financeiro para realização do presente trabalho.

Referências

- AGRA, M.F. et al. 2006. Medicinalis e produtoras de Princípios ativos. In: Espécies da flora nordestina de importância econômica potencial. In press.
- ARAÚJO, C.W.G. et al. 2002. Antimicrobial activity of *Pithecolobium avaremotemo* bark. *Fitoterapia*, 73: 698 700.

- CARVALHO, J.M.F.C; et al. 2002. Germinação e contaminação de sementes de mamoneira *in vitro* mediante quebra de dormência e desinfecção. *Rev. Bras. Ol. Fibrós.*, 6 (1): 483-490.

- HENNING, A.A.; NETO, J.B.F. 1980. Problemas na avaliação da germinação de sementes de soja com alta incidência de *Phomopsis* sp. *Rev. Bras. Sementes*, 2 (3):09-22.

- INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE AND NATURAL RESOURCES (IUCN). 2007. Red List of Threatened Species. Disponível em: www.redlist.org. Acesso em 08/09/2007.

- MENDONÇA 2000. Estudo da atividade biológica de *Pithecolobium avaremotemo* MART. E de alguns compostos obtidos comercialmente. Dissertação. CPGQB UFAL, Maceió.

- MURASHIGE, T. e SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15, 473 497.

- RICO ARCE, M.de L. e COOKE, D. 1997. *Abarema idiopoda*/ Leguminosae Mimosoideae. Bentram-Moxon Trust. Blackwell Publishers. USA.

- SILVA, M. S. da. 2003. Avaliação Farmacológica de Plantas Medicinais de Uso Popular contra Distúrbios do Trato Gastrointestinal no Povoado Colônia Treze em Lagarto/SE. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão.

- SILVA, R. B. L. et al. 2005. Asteraceae medicinais da Comunidade Quilombola de Curiaú, Macapá-AP, Brasil. In: 56º Congresso Nacional de Botânica. Curitiba PR

- SILVA, N.C.B. 2006. Potencial biotecnológico de plantas medicinais: estudo etnofarmacológico em uma comunidade quilombola da Chapada Diamantina - BA. 212 p. Tese (Doutorado em Biotecnologia Vegetal). PPBV/ UFRJ, Rio de Janeiro.